大韓氣管食道科學會誌
Vol. 4, No. 1, Jun 1998

통년성 알레르기성 비염에서의 ECP의 발현양상과 점액섬모수송기간과의 관계

가천의과대학부속 길병원 이비인후-두경부외과학교실

오승철 · 김찬우

고려대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실

이상학

= Abstract =

The Expression of ECP in the Perennial Allergic Rhinitis and Correlations with Mucociliary Clearance

Seung Chul Oh, M.D., Chan Woo Kim, M.D.

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Gachon Medical College, Gil Hospital, Inchon, Korea

Sang Hag Lee, M.D.

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

The role of the ECP(Eosinophilic cationic protein) is still unknown in the allergic rhinitis. In bronchial asthma, ECP can induce the exposure of the neuropeptidergic nerve to environments destroying the bronchial mucosa, aggravating the bronchial hypersensitivity and delay the mucociliary clearance.

In the clinical aspect, we can find that patients with perennial allergic rhinitis sometimes have sinusitis. The purpose of this article is to evaluate whether mucosal damage by ECP can play a role to develop the sinusitis by delaying the mucociliary clearance, and relationship between long

교신저자 : 오승철(Seung Chul Oh, M.D.)
405-220 인천광역시 남동구 구월동 1198번지 가천의과대학부속 길병원 이비인후-두경부외과학교실
Tel : 032) 460-3320/3436, Fax : 032) 467-9044

symptom duration of allergic rhinitis and mucociliary clearance.

In 32 perennial allergic rhinitis patients, we elucidated there is correlation among ECP presence, mucociliary clearance, sinusitis, and symptom durations.

The obtained results were as follows :

1. ECP appeared in all mucosa of each specimen.

2. Mean mucociliary clearance time is 6 mins. 12 sec. in allergic patients with sinusitis, 6 mins. 36 sec. in allergic patients without sinusitis.

3. 27 out of 32 cases have mucosal destruction.

4. Symptom duration is not correlated with the development of sinusitis.

This study suggests that ECP may destroy the mucosa in allergic rhinitis and the mucociliary clearance of allergic rhinitis is not related to sinusitis and symptom duration. Therefore development of sinusitis in allergic rhinitis seems not to be caused by delaying of mucociliary clearance due to mucosal destruction, but by some other factors.

Key Words : Allergic rhinitis, ECP, Mucociliary clearance, Mucosal destruction.

I. 서 론

활성화된 호산구에서 분비하는 유독성의 과립단백인 EPO(Eosinophil peroxidase), MBP(Major basic protein), EDN(Eosinophil derived neurotoxin) 등과 함께 화학전달물질로 작용하는 ECP (Eosinophilic cationic protein)는 현재까지 확실하게 알려져 있지 않았으나 알레르기성 비염 환자에서 상피파괴에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 기관지 천식에서는 호산구가 기관지 점막상피의 파괴에 관여하며 특히 호산구에서의 MBP, ECP 등이 이러한 기관지 점막파괴에 주요원인으로 밝혀지고 있다[1,2,3,4]. 또한 점액섬모수송기능을 저하시켜 이로 인하여 기관지천식의 증상을 더욱 악화시킬 뿐 아니라 지각신경 말단이 외부에 노출됨으로써 비특이적 자극에 의한 기관지 과민증을 더욱 악화시키는 것으로 보고되고 있다 [5]. 그러나 비알레르기에서도 비특이적 자극에 의해서 비점막 과민성이 발생한다고 알려져 있고 비알레르기 환자의 비점막에서도 호산구 침윤이 관찰되나 이에 대한 연구가 잘 되어있지 않다.

따라서 저자들은 ECP가 기관지천식에서 기관지 점막상피를 파괴하듯이 비점막을 파괴시킴으로써, 점액섬모수송기능을 저하시키고 만성부비동염과 관련되어 만성부비동염을 유발시키는 한 요인으로 작용하는 지, 또 비알레르기 증상을 일으키는 유병기간이 길수록 점액섬모수송기능의 저하가 현저히 나타나는 지에 대해 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

II. 연구 대상 및 방법

연구 대상

알레르기 비증상이 있으며, 비즙도말검사에서 다수의 호산구가 관찰되고, 피부 단자검사와 RAST(radioallergosorbent test)검사에서 집먼지와 집먼지진드기(Dermatophagoides pteronyssinus, Dermatophagoides farinae)를 항원으로 하는 통년성 알레르기성 비염환자 중, 2주간 항히스타민제를 투여 받지 않았던 32례(남23, 여9)를 연구대상군으로 하였고, 이 중 방사선 검사상 사골동과 상악동에 혼탁이 있는 8례를 만성부비동염 환자로 하였다. 이 대상군의 연령분포는 4세에서 48세로 평균연령은 15.8세였고, 이들의 비알레르기 증상을 일으키는 유병기간은 20일에서 20년이었다. 대조군으로 10례(남 5례, 여 5례, 21-32세)의 정상인의 하비갑개 점막을 사용하였다.

연구 방법

생검된 하비갑개 점막에서 호산구와 ECP의 관찰 및 점막의 손상여부와 상피층의 파괴여부를 관찰하기 위해, H-E(Hematoxylin-eosin)염색법

및 ABC법(Avidin biotin peroxidase complex)에 의한 면역조직화학적 염색을 시행하였고 호산구에서 분비되는 과립단백인 EG2양성세포의 출현 유무를 관찰하였다. 또한 Saccharin test[6,7]를 이용하여 점액섬모수송기능을 측정하였고, 단순 PNS 촬영필름으로 만성부비동염의 유무를 판정하였다.

1. 호산구 및 EG2양성세포의 관찰

1) 표본 제작

2% Xylocaine으로 편측 하비갑개에 국소침윤마취 후 알레르기비염의 조직병리학적 변화가 잘 나타나는 하비갑개의 전단에서 1cm 되는 부위를 조직절단겸자로 섬모와 상피가 다치지 않도록 하비갑개 점막을 채취하였다. 채취한 점막을 즉시 생리 식염수에 세척한 후10% 중성포르말린에 고정하고 상승 알코올계열에서 탈수한 다음 파라핀에 포매하여 표본을 작성하였다.

2) 호산구 및 EG2 양성세포의 염색 및 관찰 방법

가. 염색 방법

파라핀에 포매한 조직을 4㎛의 연속 절편을 작성하여 H&E염색과 효소항체법(ABC법)에 의한 면역조직화학적 염색을 시행하여 관찰하였다. 면역조직화학적 염색은 조직을 탈파라핀한 후에, 0.3% H_2O_2 methanol에 담그어 5분간 내인성 peroxidase를 억제하였고 PBS (phosphated buffered saline, pH 7.6)에 52분간 세척하였다. 10% 정상 말 혈청으로 비특이적 반응을 억제하기 위해서 5분간 처리하였다. 마우스 항 인체 EG2단크론성 항체(1 ; 300, Pharmacia)를 4°C에서 밤새 반응시킨 후 PBS에 세척하였다. Biotin결합 토끼 항 마우스 IgG 항체(Vectrastain Elite Kit)에 상온에서 1시간 반응시키고 PBS로 세척하였다. ABC 용액에 1시간 반응시키고 PBS로 세척 후 탈수 및 봉입하여 광학현미경 하에서 관찰하였다.

2. 점액섬모기능의 측정

사카린(saccharin)을 증류수에 용해하여 30%용액으로 만들어서 냉장 보관한 후, 비강 내 하비갑개 전단 부와 비중격의 전단 부의 해당하는 비강저부에 점적한 시간으로부터 30초마다 침을 삼키게 하여, 사카린 용액이 인두에 닿아 단맛을 느낄 때까지의 시간을 기준으로 하였으며, 운반시간의 측정은 30분까지 측정하였다.

3. 통계학적 처리

통계학적 분석은 Macintosh 컴퓨터용 Stat View II 프로그램을 이용하여 Mann-Whitney U test 로 검증하였다.

III. 결 과

1. ECP의 출현유무 및 파괴유무

대상군에서는 H&E 염색과 면역조직학적 염색 후 하비갑개점막 내의 ECP가 전례에서 관찰되었고, 점막의 파괴소견은 32례 중 27례에서 관찰되었고, 나머지 5례에서도 일부 파괴된 소견을 보였다(Fig. 1). 그러나 대조군에서는 하비갑개 점막 전층에서 EG2양성세포가 거의 관찰되지 않았다.

2. 점액섬모시간과 만성부비동염과의 관계

대상군 32례 중 8례에 해당되는 만성부비동염이 있는 군의 점액수송기간은 6분 12초로, 24례의 만성부비동염이 없는 군에서의 6분 36초와 유사하여 통계적인 유의 차는 인정되지 않았다($P > 0.1$)(Fig. 2).

3. 점액섬모시간과 유병기간과의 관계

대상군 중 3년이내의 유병기간을 갖는 22례에서 점액수송기간은 6분 23초로, 3년이상의 유병기간을 갖는 10례의 7분 57초와 유사하여 통계적인 유의 차는 인정되지 않았다($P > 0.1$)(Fig. 3).

IV. 고 찰

알레르기성 질환에 있어서 호산구가 활성화되면 호산구의 과립단백인 ECP, EPO, EDN와 MBP 등이 방출되어 점막상피조직의 변형 및 파괴를 일으킨다는 보고와 함께[1,2,3,4], 기관지 천식뿐 아니라 이비인후과 영역의 알레르기 비염에서의 화학전달물질들의 관여가 연구되고 있다.

기관지 천식에서 호산구 내에 존재하는 세포장애물질인 ECP, MBP, EPO 등에 의한 기도조직손상 및 기관상피탈락과 함께 점액섬모수송기능의 저하로 인하여 기도 내에 염증반응을 일으키고 기관지 과민성을 증가시킨다고 하였고, 이것은 EG2양성세포수가 많아질수록 상피층의 탈락이 심화되고, 그러므로써 지각신경의 말단이 쉽

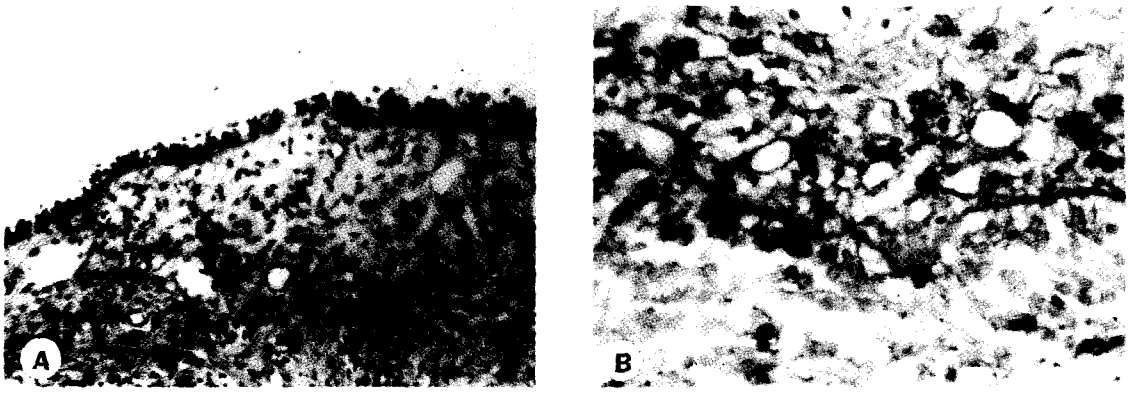

Fig. 1. *A: Many eosinophils are noted in the epithelium and submucosa of the inferior turbinate (H & E staining, ×100). B: EG2 immunoreative eosinophils are present in the nasal mucosa (ABC method, ×400).*

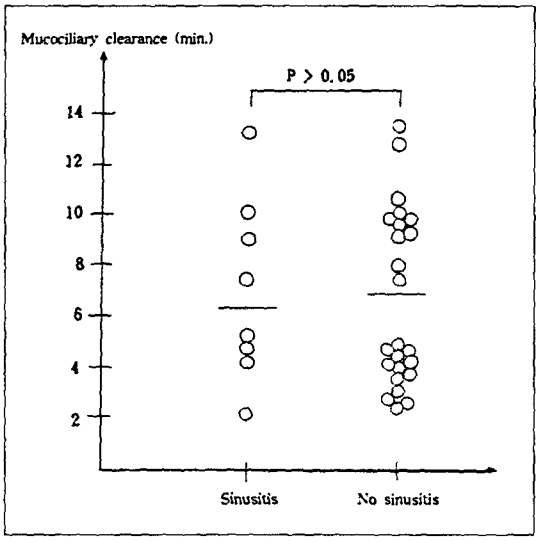

Fig. 2. *Relationship between mucociliary clearance and sinusitis in allergic rhinitis*

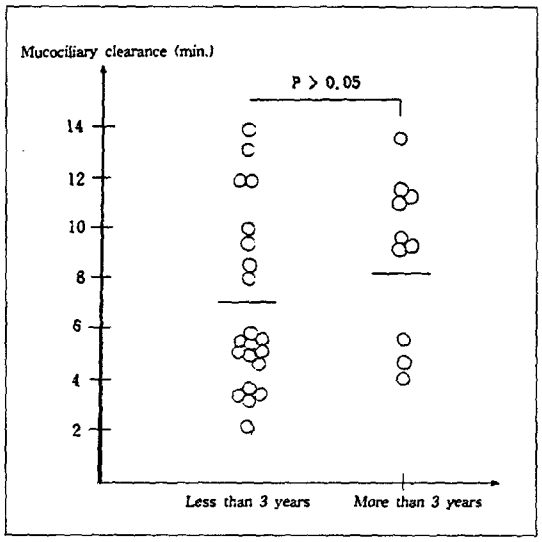

Fig. 3. *Relationship between mucociliary clearance and symptom duration in allergic rhinitis*

게 히스타민에 노출되어 히스타민 역치가 낮아지는 것으로 사료된다고 하였다[1,2,3,4,8,9]. 그러나 이러한 이론적 근거는 기관지 천식환자에서는 밝혀져 있으나 현재까지 알레르기 비염의 비점막에서도 이러한 기전이 발생하는 지에 대해서는 확실하게 보고되어 있지 않다.

호산구의 과립단백의 하나인 ECP는 분자량 21,000Kd의 염기성단백으로 과립단백성분의 30%을 차지하며[10], 백서에서는 비만세포로부터의 히스타민유리를 촉진하며, 상피세포의 탈락, 섬모운동의 장애를 일으키는 것으로 보고되어 있다[8,9]. 호산구의 단크론성 항체 중, 활성화된 호산구의 상청액을 마우스에 면역시켜 얻은 단크론성 항체 EG2는 정제 ECP, EDN 및 활성화된 상태에 있는 호산구와 반응하지만 정상 호산구와는 반응하지 않으므로 호산구의 활성화에 대한 유용한 지표로 사용될 수 있다[11,12,13,14].

Bousquet 등[15]과 Bradley 등[16]은 천식환자의

기관점막을 생검하여 항EG2항체로 면역조직화학 조직 염색을 하여 천식환자에서는 탈과립된 호산구가 상피층과 고유점막표층에서 관찰하였다고 하였고, 高村 등[11]은 알레르기성 비염 환자의 하비갑개 점막에서 탈과립된 호산구가 전 층에 걸쳐 분포한다고 하였으며, 高崎 등[12]은 EG1과 EG2양성세포을 동시에 관찰하여 비알레르기 환자의 하비갑개 점막에 있는 호산구는 대부분 활성화되어 있다고 하였다. 저자의 관찰에서도 EG2 양성세포는 알레르기성 비염의 하비갑개 점막에 전 층에 걸쳐 분포하며 특히 점막표층에 다수 존재하는 것을 관찰할 수 있었다. Bousquet 등[15]과 Motojima 등[3]은 in vivo와 in vitro에서 ECP와 MBP 등이 호흡상피를 탈락시켜 기관지 과민성을 일으킨다고 하였고 저자의 결과에서도 알레르기성 비염환자의 대부분의 예에서 상피의 박리 및 탈락이 관찰되었다. 생검 조직의 H&E염색에서는 상피의 탈락을 볼 수 있었는데 이것은 조직생검 자체의 기술적 오류 및 슬라이드 제작과정의 실수에 기인하는 것으로 생각할 수 있으나, EG2양성세포수가 적을수록 상피탈락이 미비하고 EG2양성세포수가 많을수록 상피의 탈락 및 박리가 심한 것으로 보아 EG2 양성세포수와 상피탈락은 상관관계가 있는 것으로 사료되며, 또한 다른 실험에서 동일한 방법으로 실시한 하비갑개 생검조직과 비교해 볼 때, 비교적 현저한 상피파괴현상을 관찰할 수 있어 활성화된 호산구에서 분비된 ECP에 의해 비알레르기점막의 상피층이 파괴될 수도 있다고 보여진다.

또한 만성부비동염에서 점액의 섬모운동이 저하되는 원인은 비점막의 파괴로 인한 섬모운동자체가 감소한다고 알려져있으나[17], 저자의 실험에서 만성부비동염을 동반한 알레르기성 비염에서 하비갑개의 비점막의 파괴가 관찰되었음에도 정상범주내의 점액섬모수송시간을 관찰할 수 있었다. 이는 측정하고자하는 점액섬모수송운동이 비강저 부위에서 일어나는 반면, 비점막의 파괴소견을 보이는 생검조직은 하비갑개인 바, 이러한 차이로 비점막의 파괴와 정상의 점액섬모수송시간 간의 불일치를 설명할 수 있다고 생각되며, 앞으로 구강저 점막의 추가적 생검 등 이에 대한 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

통년성 알레르기 비염 환자 32례를 대상으로 하비갑개 점막조직에서의 EG2 양성세포의 유무 및 비점막상피층의 파괴여부를 관찰한 결과, 또한 점액섬모수송기능과 만성부비동염 및 유병기간의 상관관계를 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. EG2양성세포는 알레르기성 비염 환자의 전례에서 하비갑개 점막의 전 층에 분포하는 것을 관찰하였으며, 또한 대부분의 예에서 비점막의 상피층이 파괴된 양상을 보였다.
2. 알레르기비염에서 만성부비동염이 동반되더라도 점액섬모수송시간은 정상이었다.
3. 알레르기비염에서 유병기간이 길어도 점액섬모수송기간은 저하되지 않았다.

결론적으로 ECP는 알레르기 비염에서 비점막의 상피층을 파괴시킬 수도 있다고 생각되며, 이러한 알레르기성 비염에서의 만성부비동염의 동반은 비점막 상피층의 파괴에 의한 점액섬모수송기능의 저하보다는 어떠한 다른인자에 의해 주로 일어난다고 사료된다.

References

1. Frigas E, Loegering DA, Gleich GJ: *Cytotoxic effects of the guinea pig eosinophil major basic protein on tracheal epithelium. Lab Invest 42: 35-43, 1980*
2. Gleich GJ, Loenering DA, Maldonado JE: *Identification of a major basic protein in guinea pig eosinophil granules. J Exp Med 137: 1459-1471, 1973*
3. Motojima S, Frigas E, Loegering DA, Gleich GJ: *Toxicity of eosinophil cationic proteins for guinea pig tracheal epithelium in vitro. Am Rev Respir Dis 139: 801-805, 1989*
4. Venge P, Dahl R, Hallgeren R: *Cationic proteins of human eosinophils and the role in the inflammatory reaction in Mahmound AAF, Austin KF(ed), The eosinophil in health and disease. pp 131-146, Grune &*

Stratton, New York, 1980

5. Flavahan NA, Slifman NR, Gleich GJ, Vanhoutte PM: *Human eosinophil major basic protein cause hyperreactivity of respiratory smooth muscle; role of the epithelium. Am Rev Respir Dis 138: 684-688, 1988*
6. Lee JG, Park IY, Kim YM, Suh KS, Hyun SJ: *Nasal mucociliary clearance by saccharin method in pathologic condition of the nose. Korean J Otolaryngol 31: 602,1988*
7. Warner A: *Clinical aspects of mucociliary transport. Am Rev Resp Dis 116: 73-125, 1977*
8. Hisamatsu K, Ganbo T, Nakazawa T et al: *Cytotoxicity of human eosinophil granule major basic protein to human nasal mucosa in vitro. J Allergy Clin Immuno 86: 52-63, 1990*
9. Zeiger RS, Colten HR: *Histaminase releas from human eosinophils. J Immunol 118: 540-543, 1997*
10. Holgate ST, Roche WR, Church MK: *The role of the eosinophil in asthma. Am Rev Respir Dis 143: S66-70, 1991*
11. 高村博光, 吉見龍一郎, 隅上秀伯: 鼻アレルギー患者の 下甲介粘膜における 好酸球EG2について. 日鼻誌 29: 129,1990
12. 高崎賢治, 吉見龍一郎, 隅上秀伯: 鼻アレルギー患者の 下甲介粘膜における 好酸球EG1, EG2について. 日鼻誌 30: 349, 1991
13. Tai PC, Spry CJF, Peterson C, Venge P, Olsson I: *Monoclonal antibodies distinguish between storage and secreted forms of eosinophil cationic protein. Nature 309: 182-184, 1984*
14. Takamura H, Yoshimi R, Kumagami, H: *Distribution of EG2 in nasal mucosa of allergic rhinitis. J Jap Rhinol Soc 30: 172, 1991*
15. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY et al: *Eosinophilic inflammation in asthma. N Eng J Med 323: 1033-1039, 1990*
16. Bradley B, Azzawi M, Jacobson M et al: *Eosinophils, T-lymphocytes, mast cells, neutrophils, and macrophages in bronchial biopsy specimens from atopic subjects with asthma: Comparison with biopsy specimens from stopic subjects without asthma and normal control subjects and relationship to bronchial hyperresponsiveness. J Allergy Clin Immunol 88: 6612-674, 1991*
17. Ohashi Y, Nakai Y: *Reduced ciliary action in chronic sinusitis, Acta Otolaryngology 397: 3-9, 1983*